

ارزیابی روابط فیلوژنتیکی مولکولی ژن ACC در جنس‌های *Elymus* و *Leymus* و *Hordeum* Assessment of phylogenetic relationships of ACC gene in *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera

مرجان بهزادی راد^۱، محمد رضا نقوی^۲ و علیرضا طالعی^۳

چکیده

بهزادی راد، م.، م. ر. نقوی و ع. ر. طالعی. ۱۳۹۱. ارزیابی روابط فیلوژنتیکی مولکولی ژن ACC در جنس‌های *Elymus* و *Leymus* و *Hordeum*. مجله علوم زراعی ایران. ۱۴(۱): ۸۴-۹۳.

ژن تک نسخه پلاستییدی استیل کوآنزیم آ، اولین عامل کاتالیزی در بیوسنتز اسیدهای چرب، در مطالعه روابط فیلوژنتیکی، تکاملی و سیستماتیکی گندمیان توانایی زیادی دارد. احتمال اینکه، ژن‌های تک نسخه و کم نسخه دستخوش تکامل گروهی شوند کم است، بنابراین ACC ژن مهمی جهت مطالعه مبدأ و تکامل پلی پلوئیدها محسوب می‌شود. در این تحقیق رابطه فیلوژنتیکی هفت گونه و زیرگونه‌ی جوهای بومی ایران، (*Hordeum marinum* Hudson)، (*Hordeum brevisubulatum* Trinus Link)، (*Hordeum bulbosom* L.)، (*Hordeum spontaneum* K. Koch)، جو زراعی دو ردیفه (*Hordeum vulgare* convar. *distichon* L.)، جو زراعی شش ردیفه (*Hordeum vulgare* convar. *hexastichon* L.)، با استفاده از آغازگر اختصاصی ژن استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز ACC1 بررسی و توالی‌های بدست آمده از جو با توالی گونه‌هایی از جنس *Elymus* و *Leymus* موجود در پایگاه اطلاعاتی مقایسه شدند. نتایج نشان داد که جوهای بومی ایران تنوع زیادی داشتند. درخت فیلوژنتیکی نمونه‌ها را به دو گروه اصلی تقسیم نمود که اولین گروه شامل تمامی نمونه‌های جنس *Elymus* و *Leymus* و دو گونه از جنس *Hordeum* بود، در حالی که گروه دوم شامل گونه‌ها و زیرگونه‌های *Hordeum* ایرانی همراه با *Hordeum vulgare* بود که مبدأ آن شناخته شده نیست. نتایج حاصل از درخت فیلوژنتیکی در این تحقیق با نتایج سایر مطالعات بدست آمده از تحقیقات مورفولوژیکی و مولکولی مطابقت داشت. از آنجایی که ژن ACC1 منبع ارزشمندی جهت تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی در طایفه *Triticeae* می‌باشد، لذا نتایج این تحقیق وضعیت ژنومی گونه‌ها و روابط تکاملی بین آنها و همچنین روابط منطقی تاکسونومی گونه‌های مهم و بومی جو ایران با استفاده از مقایسه توالی‌های DNA برای ژن مورد نظر را به خوبی مشخص نمود.

واژه‌های کلیدی: تکامل مولکولی، توالی ژن، ژن ACC، فیلوژنتیک و *Hordeum*

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۶/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۲۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی دانشگاه تهران. عضو انجمن علوم زراعت و اصلاح نباتات ایران (مکاتبه کننده)
(mbehzadi@ut.ac.ir)

۲- استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

۳- استاد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

مقدمه

جنس جو (*Hordeum*) متعلق به طایفه *Triticeae* از خانواده گندمیان (*Poaceae*) است. این جنس بطور کامل شناسایی شده است و شامل گونه‌های تک اجدادی است که به آسانی قابل تشخیص هستند. جنس *Hordeum* همانند اکثر جنس‌های دیگر در مناطق معتدل، هم در نیمکره شمالی و هم در نیمکره جنوبی پراکنش دارد. در مناطق نیمه گرمسیری، در مرکز آمریکای جنوبی و مناطق قطبی در آمریکای شمالی و آسیای مرکزی و از سطح دریا تا ارتفاع بیش از ۴۵۰۰ متری در کوه‌های هیمالیا و آند دیده می‌شود. مراکز تنوع این جنس با توجه به مناطقی که دارای بیشترین تعداد گونه‌هاست در دنیا در چهار منطقه، جنوب غربی آسیا، آسیای مرکزی، غرب آمریکای شمالی، جنوب آمریکای جنوبی (با ۱۶ گونه‌ی وحشی) است که در منطقه‌ی اخیر بیشترین تعداد گونه‌ها می‌رویند (Von Bothmer et al., 1991). جو زراعی (*H. vulgare*) یکی از گونه‌های مهم اقتصادی این جنس است که برای تغذیه‌ی چهارپایان و تولید مالت استفاده می‌شود. تعداد کروموزوم‌های پایه جو $x=7$ می‌باشد که گونه‌های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید آن به ترتیب ۱۴، ۲۸ و ۴۲ کروموزوم دارند (Blattner, 2009). گونه‌های مختلف جو معمولاً در زادگاه‌های طبیعی مانند دشت‌ها (جلگه‌ها) و مرغزارها در امتداد رودخانه‌ها و نه‌رهای آب روان، خیلی از آنها در خاک‌های نمکین و امروزه در سرخیابان‌ها و کنار کانال‌های آبیاری در سرتاسر زمین‌های طبیعی گسترش دارند (Nishikata et al., 2002; Petersen and Seberg, 2003).

تلاش زیادی جهت بررسی روابط فیلوژنتیکی در جنس *Hordeum* انجام گرفته است، زیرا جو یکی از محصولات مهم جهانی است و گونه‌های وحشی آن منابع ژنتیکی غنی را جهت بهبود محصولات دارند. جهت مطالعه سریع آنالیزهای فیلوژنتیکی

مولکولی در این جنس، در دهه اخیر از توالی‌های DNA استفاده شده است (Blattner, 2004; Jakob et al., 2006; Sun et al., 2009). جنس *Leymus* گیاهی چندساله از خانواده گندمیان است که تنوع مورفولوژیکی زیادی دارد و در مناطقی با شرایط اکولوژیکی متفاوت پراکنش دارد. این جنس دارای ۳۵ گونه است که همگی آنها قبلاً جزء *Elymus* دسته بندی می‌شدند. پنج سطح پلوئیدی در *Leymus* وجود دارد که شامل تتراپلوئید، هگزاپلوئید، اکتاپلوئید، دکاپلوئید و دودکاپلوئید بوده به ترتیب ۲۸، ۴۲، ۵۶، ۷۰ و ۸۴ کروموزوم دارند (Orgaard, 1994). *Elymus* گیاهی چندساله از خانواده گندمیان است که حداقل ۱۵۰ گونه دارد و در حدود نیمی از این گونه‌ها در آسیا پراکنش دارند. گیاهان این جنس به نام چاودار وحشی یا علف گندم شناخته می‌شوند. این جنس دارای سطوح پلوئیدی متفاوت است که شامل تتراپلوئید و هگزاپلوئید و اکتاپلوئید با $x=7$ می‌باشد (Orgaard and Ananthawat-jonsson., 2001).

اولین مرحله تولید اسیدهای چرب در موجودات زنده کربوکسیله شدن مولکول استیل کوآنزیم آ می‌باشد که این عمل تحت تأثیر استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز صورت می‌پذیرد. این آنزیم در شروع واکنش سنتز اسیدهای چرب مورد نیاز است. اسیدهای چرب به عنوان مولکول‌های سوختی و تأمین واحدهای ساختمانی غشاهای زیستی ضروری هستند (Safari, 2003). قطعات ژن استیل کوآنزیم آ کربوکسیلاز ۱/۸-۱/۵ kb هستند. قطعه ژن *ACC* کربوکسیلاز (acetyl-CoA carboxylase) که آنزیم پلاستییدی را رمز می‌کند ۷ اینترون و ۸ اگزون دارد (Hung et al., 2002). هوانگ و همکاران (Huang et al., 2002) از دو سیستم ژنی بر مبنای توالی‌های ژن‌های هسته‌ای رمزکننده استیل کوآنزیم آ (*ACCase*) و ۳-فسفوگلیسرات کیناز (*PGK*) در مطالعه تکامل گندم و سایر گندمیان استفاده نمودند. نتایج آزمایش‌های آنها نشان داد که اغلب

استفاده نمود (Von Bothmer *et al.*, 2003). ایران به عنوان یکی از مراکز بومی جو مورد توجه است و با توجه به اینکه اجداد وحشی جو دارای تنوع ژنتیکی بسیار زیادی هستند، یافتن روابط تکاملی این گیاه بسیار ارزشمند است و هدف از تجزیه تحلیل های فیلوژنتیکی کشف ترتیبی از شاخه ها بصورت درخت هایی است که نشان دهنده بهترین رابطه ی تکاملی بین توالی ها باشد (Naghavi *et al.*, 2009). با بررسی رابطه فیلوژنی مولکولی می توان اطلاعاتی درباره گونه ها و نسل های اجدادی منقرض شده و حتی برآورد شروع زمان انشعاب و طبقه بندی دقیق گیاه مورد نظر را بدست آورد. این روش در برنامه های به نژادی انتقال ژن بطور مؤثری مورد استفاده قرار می گیرد (Xion, 2006).

هدف از این تحقیق تعیین ارتباط فیلوژنتیکی گونه های مختلف جوهای بومی ایران با گونه هایی از جنس های *Leymus* و *Elymus* با استفاده از ژن *ACC* بوده است.

مواد و روش ها

مواد گیاهی

در این تحقیق کار آزمایشگاهی بر روی هفت گونه و زیرگونه جو بومی ایران که از بانک ژن ملی ایران و کشور استرالیا تهیه شده بودند، جهت بررسی روابط فیلوژنتیکی با استفاده از آغازگر اختصاصی مربوط به ژن *ACC1* انجام شد. همچنین از توالی ژن *ACC* جنس های *Leymus* و *Elymus* موجود در پایگاه اطلاعاتی NCBI استفاده گردید. مشخصات بذور جو در جدول یک ارائه شده است.

این تحقیق در سال ۱۳۸۸ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران انجام شد. تعداد ۵-۶ بذر از هر کدام از گونه ها و زیرگونه های جو بومی ایران در گلدان کشت و پس از رشد گیاهچه ها و ظهور حداقل دو برگ (حدود دو تا سه هفته پس از کشت) از آنها نمونه برداری شد.

گونه های گندمیان مطالعه شده این دو ژن، تک نسخه می باشند. نتایج بدست آمده مربوط به ژن *ACC* یافته های قبلی تکامل را تأیید نمود. از مقایسه ی توالی نوکلئوتیدی ژن های استیل کوآنزیم آ و ۳- فسفوگلیسرات کیناز که با یکدیگر سازگار هستند، روابط فیلوژنتیکی مهمی در بین گندمیان بدست آمده است. سان و همکاران (Sun *et al.*, 2009) رابطه فیلوژنتیکی و تکامل جنس *Hordeum* را با ژن *RPB2* (RNA polymerase II) بررسی نمودند و هدف آنها یافتن (inverted-repeat terminal element) *MITE* (Miniature) در ژن *RPB2* در ژنوم این جنس و همچنین مقایسه ی تکامل ژن *RPB2* با سایر گونه های دیپلوئید *Triticeae* بود. نتایج تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی توالی های *RPB2* نشان داد که، ژنوم *H* و *Xa* در یک گروه منومورف و ژنوم *Xu* و *I* جدا از ژنوم *H* و *Xa* قرار دارند. ژانگ و همکاران (Zhang *et al.*, 2009) رابطه فیلوژنتیکی را در برخی گونه های دو جنس *Pseudoroegneria* و *Roegneria* به وسیله ژن *ACC* بررسی کردند و روابط تکاملی را بر اساس اینترون و اگزون بدست آوردند. آنها مشخصات داده های جفت شده از توالی های اینترون و اگزون محاسبه و درخت فیلوژنی آنها را نیز رسم کردند. کوماتسودا و همکاران (Komatsuda *et al.*, 1999) با مطالعه ی توالی DNA هسته ای در جنس جو روابط فیلوژنی را بین چهار ژنوم *H*، *Xa* و *Xu* بررسی نمودند. نتایج بدست آمده بر مبنای جایگزینی و نیز رویدادهای حذف و الحاق نشان داد که ژنوم *H* و *Xa* در یک گروه منومورفیک قرار دارند، در حالی که ژنوم *Xu* و *I* جدا از یکدیگر می باشند.

باتوجه به اینکه محدوده تنوع ژنتیکی هریک از خویشاوندان وحشی جو بسیار گسترده است، از این رو می توان از صفات متنوعی مانند مقاومت به آفات و بیماری ها و حتی برخی از صفات کمی از ژرم پلاسما خارجی برای انتقال به گیاهان زراعی خویشاوند آن

جدول ۱- نام و مشخصات مواد گیاهی مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Plant materials used in this experiment

گونه های جو Barley species	شماره دسترسی Accession No.	مبدأ Origin
<i>Hordeum marinum</i> Hudson	TN.02-904	Sari
<i>Hordeum. murinum</i> L.	TN.02-1085	Lorestan
<i>Hordeum bulbosom</i> L.	406400, 25VM91	Iran
<i>Hordeum spontaneum</i> K. Koch	TN.02-494	Saveh
<i>Hordeum brevisubulatum</i> Trinus Link	406383, 13VM91	Iran
<i>Hordeum vulgare</i> convar <i>distichon</i> L.	KC.70062	khoram abad
<i>Hordeum vulgare</i> convar <i>hexastichon</i> L.	TN.02-102	Turkey

استخراج DNA، PCR و توالی یابی

DNA استخراج شده، از دستگاه نانودراپ و ژل آگارز یک درصد استفاده شد. واکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از آغازگر ACC1 (Huang *et al.*, 2002) با استفاده از دستگاه ترموسایکلر انجام شد (جدول ۲).

استخراج DNA ژنومی از برگ های تازه و به روش CTAB تغییر یافته (Murray and Thompson, 1980) انجام گرفت. جهت بررسی کمیت و کیفیت نمونه های

جدول ۲- توالی آغازگر مورد استفاده در آزمایش

Table 2. The sequence of the primer used in this experiment

نام آغازگر Primer name	توالی رفت Forward	توالی برگشت Reverse
ACC1	GTTCCTGGCTCCCCAATATTTATC CCCAATATTTATCATGAGACTTGCA	TTCAAGAGATCAACTGTGTAATCA CAACATTTGAATGAATCTCCACG

خالص شده از روی ژل به مرکز توالی یابی SEQLAB آلمان ارسال شدند. توالی قطعات تکثیری حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از آغازگرهای Forward و Reverse بدست آمد. به منظور تعیین قرابت گونه ها و بررسی روابط فیلوژنتیکی از نرم افزارهای Mega، BLAST، DNASTAR استفاده شد.

محصولات PCR بر روی ژل آگارز یک درصد تفکیک و ارزیابی شدند و باند مورد نظر با سائز مارکر ۱۰۰-۳۰۰۰ bp SMO323 شرکت فرمتاز مقایسه شد و قطعه ۱۵۰۰-۱۸۰۰ bp برای ژن *ACC1* شناسایی گردیدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه تحلیل با نرم افزار BLAST نشان داد که توالی های *ACC1* گونه های جو بومی ایران با چه توالی هایی از این ژن، در گونه ی مورد نظر و

در حجم ۲۵ میکرولیتر، که حاوی یک واحد از آنزیم (High-fidelity LA-Tag DNA polymerase) Takara، بافر PCR (۱X)، ۵۰-۲۰ نانوگرم از DNA ژنومی، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۰/۲ میلی مولار از هر dNTP، یک میکرومولار از هر آغازگر انجام شد. برنامه PCR به ترتیب ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، ۵۶ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۶۸ درجه سانتی گراد به مدت دو دقیقه و دمای بسط نهایی ۶۸ درجه سانتی گراد به مدت هشت دقیقه بکار گرفته شد. محصول PCR بر روی ژل آگارز یک درصد تفکیک و ارزیابی شدند (Zhang *et al.*, 2009). محصولات PCR که ۱۵۰۰-۱۸۰۰ bp طول داشتند، جهت توالی یابی از روی ژل جدا شده و به روش glassmilk خالص سازی شدند و قطعات تکثیری



شکل ۱- تصویر ژل الکتروفورز گونه‌های جو، به ترتیب از چپ به راست:

H. spontaneum, *H. bulbosom*, *H. brevisubultum*, *H. marinum*, *H. distichon*, *H. murinum*, *H. hexastichon*.

Fig. 1. Electrophoresis gel for barley species from left to right:

H. spontaneum, *H. bulbosom*, *H. brevisubultum*, *H. marinum*, *H. distichon*, *H. murinum*, *H. hexastichon*

از نظر توالی، کد ژنتیکی آن گیاه، نام گونه‌هایی که این آزمایش بر روی آن‌ها انجام شده، در نتایج حاصل از همردیفی نشان داده شده است. بعد از شناسایی خویشاوندان هر یک از گونه‌ها بر اساس ژن *ACC1* در NCBI و با استفاده از نرم افزار

گونه‌های دیگر شباهت دارد (جدول ۳). در جدول ۳ در قسمت بالای همردیفی متنی، به ترتیب از چپ به راست، اطلاعاتی در خصوص درصد همسانی، ارزش E (میزان تفاوت دو توالی از یکدیگر) و شباهت بین دو توالی، نام و توضیح مربوط به گونه‌های مشابه

جدول ۳ - تطابق بین توالی گونه‌های جو با توالی‌های موجود در پایگاه اطلاعاتی با استفاده از BLAST

Table 3- Alignment of the barley's sequences with NCBI sequences using BLAST

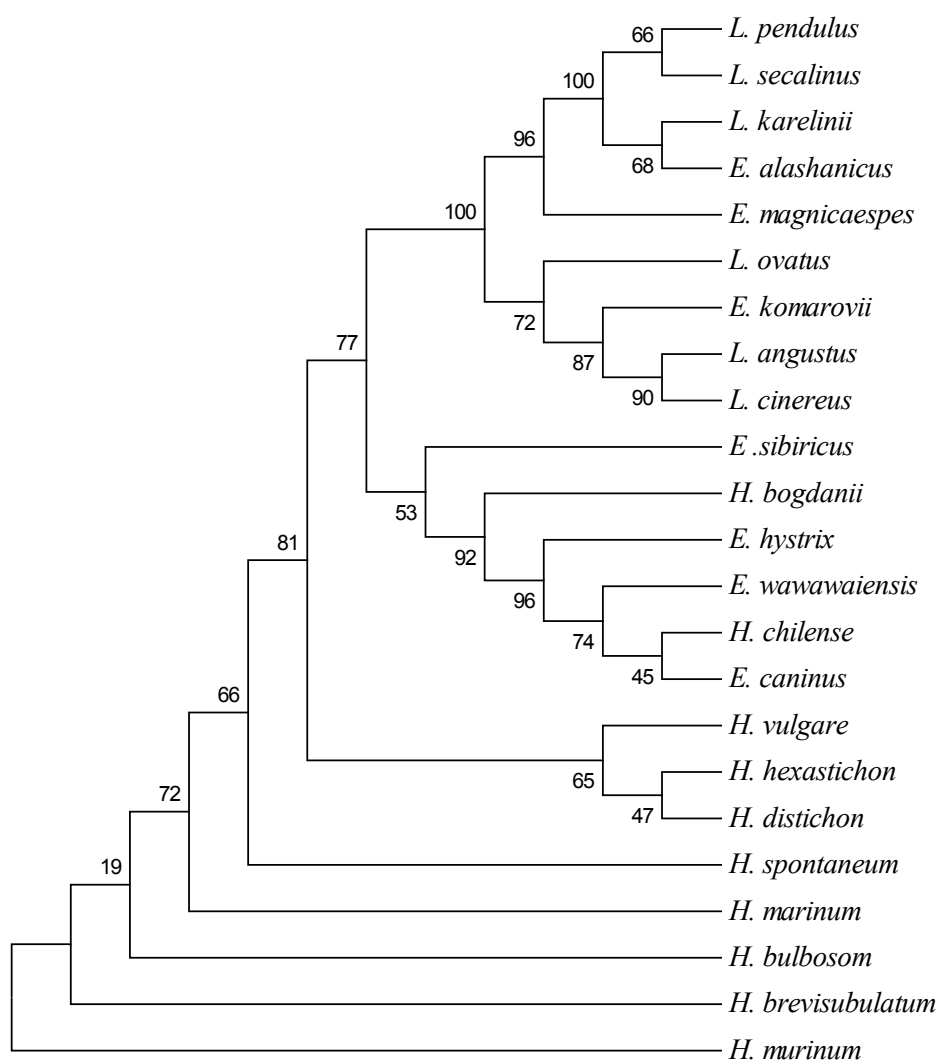
گونه‌های جو Barley species	شماره دسترسی Accession No.	نوع گونه‌ها Description	مشابهت بین دو توالی Query coverage	ارزش E E value	همسانی Max ident (%)
<i>H. vulgare hexastichon</i> L.	AF343509.1	<i>Hordeum vulgare</i>	98%	0.0	96
	EU626418.1	<i>Elymus sibiricus</i>	98%	0.0	94
<i>H. vulgare distichon</i> L.	AF343509.1	<i>Hordeum vulgare</i>	98%	0.0	97
	DQ319185.1	<i>Hordeum bogdanii</i>	98%	0.0	96
<i>H. marinum</i> L.	EU626418.1	<i>Elymus sibiricus</i>	98%	0.0	91
	EU626416.1	<i>Elymus caninus</i>	98%	0.0	91
<i>H. spontaneum</i> K. Koch	AF343509.1	<i>Hordeum vulgare</i>	98%	0.0	95
	DQ319185.1	<i>Hordeum bogdanii</i>	98%	0.0	94
<i>H. murinum</i> L.	AF343509.1	<i>Hordeum vulgare</i>	72%	2e-140	77
	DQ319185.1	<i>Hordeum bogdanii</i>	72%	5e-137	77
<i>H. brevisubulatum</i> Trinus Link	AF343509.1	<i>Hordeum vulgare</i>	83%	5e-177	76
	DQ319185.1	<i>Hordeum bogdanii</i>	89%	9e-168	75
<i>H. bulbosom</i> L.	EU626416.1	<i>Elymus caninus</i>	80%	1e-147	82
	DQ335573.1	<i>Elymus hystrix</i>	80%	1e-147	82

فیلوژنتیکی استفاده شد. آنالیزهای فیلوژنتیکی تخمینی از چگونگی اشتقاق اعضای یک خانواده در طی تکامل هستند. این روابط به وسیله مطالعه جهش‌های جایگزینی، حذف، ازدیاد و جهش با آرایش مجدد

BLAST، توالی‌های نزدیک به هر یک از گونه‌ها یعنی توالی گونه‌هایی از جنس‌های *Hordeum*، *Leymus* و *Elymus*، تعیین گردیده و نمونه‌هایی که دارای ارزش E پایین یا صفر بودند انتخاب و از آنها برای ترسیم درخت

نرم افزار Mega 4 همردیف شده و در این تحقیق شیوهی رسم درخت فیلوژنتیکی روش اتصال مجاور بود که، یکی از روش های رایج ساخت درخت تکاملی است. در این تحقیق جهت بررسی صحت درخت ها از آزمون Bootstrap با تکرار پذیری ۱۰۰ استفاده شد. رابطه تکامل گونه ها در قالب درخت در شکل یک نشان داده شده است.

تعیین می شوند که در معرض انتخاب طبیعی می باشد (Golovnina et al., 2007). روابط تکاملی بین توالی ها با استفاده از نمودارهایی به نام درخت فیلوژنتیکی نشان داده می شوند. هدف از آنالیزهای فیلوژنتیکی کشف ترتیبی از شاخه ها به صورت درخت هایی است که نشان دهنده بهترین روابط توالی ها باشد (Naghavi et al., 2009). برای این کار، توالی ها با



شکل ۲- درخت فیلوژنتیکی گونه هایی از جنس های *Hordeum*، *Leymus* و *Elymus* به روش Neighbor Joining برای ژن *ACC1*

Fig. 2. Phylogenetic trees some species of *Hordeum*، *Leymus* and *Elymus* by Neighbor Joining for *ACC1*

دنیا، توالی ژن *ACC* آن ها جهت تعیین رابطه فیلوژنتیکی بررسی شده است. این نمودار با مقیاس

گونه های *Hordeum* که در این تحقیق استفاده شدند، جوهای بومی ایران هستند که برای اولین بار در

Leymus و *Hordeum* وجود دارد (Orgaard, 1994). درخت تکاملی فوق از *Leymus pendulus* آغاز و به *Elymus caninus* ختم می شود که این گونه آخرین شاخه گروه اول است و قرابت زیادی با *Hordeum* های بومی ایران دارد. گروه دوم برعکس گروه اول تنوع بسیار زیادی را، حتی در بین خودشان نشان می دهند که این نشان دهنده تفاوت زیاد جوهای ایران با یکدیگر است. *Hordeum vulgare* نیز در گروه دوم در شاخه ای نزدیک به جوهای شش ردیفه و دو ردیفه و همچنین *Hordeum spontaneum* K. Koch قرار گرفت. نزدیک بودن *Hordeum vulgare* به *Hordeum spontaneum* K. Koch در درخت فیلوژنی، تحقیقات مورفولوژیکی قبلی مبنی بر اینکه *Hordeum spontaneum* K. Koch گونه ای از *Hordeum vulgare* L. است (Von Bothmer et al., 1991) را تأیید نمود. *Hordeum murinum* L. و *Hordeum bulbosom* L. از نظر مورفولوژی مشابه هستند (Von Bothmer et al., 1991) که قرار گرفتن *Hordeum murinum* L. و *Hordeum bulbosom* L. در شاخه های نزدیک به هم، مؤید این مطلب است. نتایج حاصل از درخت فیلوژنتیکی در این تحقیق با سایر نتایج بدست آمده از تحقیقات مورفولوژیکی و مولکولی ذکر شده، مطابقت داشته است (Sun et al., 2009; Komatsuda et al., 1999; Mason-Gamer, 2008; Blattner, 2004). احتمال اینکه، ژن های تک نسخه و کم نسخه دستخوش تکامل گروهی شوند، کم است، بنابراین آن ها ابزار مهمی برای مطالعه ی مبدأ و تکامل پلی پلوئیدها می باشند (Liu et al., 2006; Golovnina et al., 2007; Che et al., 2007) با توجه به اینکه ژن های هسته ای همانند *ACC* با تعداد کمی کم، اغلب توالی های ایترونی متفاوتی دارند، می توانند جهت تشخیص روابط بین گونه های خویشاوند و جهت نشان دادن روابط تکاملی درون ژنومی بکار روند

۰/۰۵ رسم شده و نشان می دهد که تفاوت بین دو توالی ۵ درصد می باشد. *Hordeum murinum* L. در شاخه ای جدا از بقیه قرار گرفته در نتیجه در آنالیزهای فیلوژنتیکی بعنوان جد مشترک سایر گونه ها شناخته می شود. بطور کلی درخت فیلوژنتیکی نمونه ها را به دو گروه اصلی تقسیم نمود که اولین گروه شامل تمامی نمونه های جنس *Leymus* و *Elymus* و دو گونه ی *Hordeum bogdanii* و *Hordeum chilense* می باشد. در حالی که گروه دوم شامل گونه ها و زیرگونه های *Hordeum* ایرانی متشکل از *Hordeum marinum* Hudson, *murinum* L., *Hordeum brevisubulatum* Trinus Link, *Hordeum spontaneum* K. Koch, *Hordeum bulbosom* L., *Hordeum vulgare* convar *distichon* L., *Hordeum vulgare* convar *hexastichon* L. شش ردیفه همراه با *Hordeum vulgare* است. طول شاخه ها در گونه های *Hordeum murinum* L., *Hordeum brevisubulatum*, *Hordeum bulbosom* L. Trinus Link بسیار زیاد است که این نشان دهنده تغییرات زیادی است که طی تکامل در این گونه ها رخ داده است. طبق بررسی های انجام شده بر روی یکی از گونه های جنس *Elymus* که شامل سه گروه ژنومی مختلف است، نشان داد که این ژنوم ها از جنس های *Hordeum* و *Pseudoroegneria* و جنس ناشناخته دیگری به گونه مورد نظر در این جنس رسیده است (Mason-Gamer, 2008). طبقه بندی آلپلوئیدهایی از جنس (*Hordeum*) که دارای ژنوم I/Xa هستند شبیه به جنس هایی از گندمیان است که، از ترکیب ژنوم های والدینی مثل *Elymus* و *Leymus* بوجود آمده اند (Blattner, 2009). تفکیک نشدن این سه جنس از یکدیگر دور از انتظار نبود، زیرا قرابت نزدیک *Hordeum*, *Elymus* و *Leymus* در تحقیقات قبلی نیز تأیید شده و همچنین امکان هیبریداسیون بین دو جنس

بومی جو ایران با استفاده از مقایسه توالی های DNA (Zhang *et al.*, 2009, Small *et al.*, 1998) نتایج این تحقیق وضعیت ژنومی گونه ها و روابط تکاملی بین آنها و همچنین روابط منطقی تاکسونومیکی گونه های مهم و

References

منابع مورد استفاده

- Blattner, F. R. 2004.** Phylogenetic analysis of *Hordeum* (*Poaceae*) as inferred by nuclear rDNA ITS sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 33: 289-299.
- Blattner, F. R. 2009.** Progress in phylogenetic analysis and a new infragenetic classification of barley genus *Hordeum* (*Poaceae: Triticeae*). *Breeding Sci.* 59: 471-480
- Che, J., J. F. Pang., H. Zhao., G. F. Wu., E. M. Zhao and Y. P. Zhang. 2007.** Molecular phylogeny of the Chinese ranids inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Biochem. Syst. Ecol.* 35: 29-39.
- Golovnina, K. A., S. A. Glushkov., A. G. Blinov., L. R. Adkison and N. P. Goncharov. 2007.** Molecular phylogeny of the genus *Triticum*. *Plant Syst. Evol.* 264: 195-216.
- Huang, S. A. Sirikhachornikit, J. D. Faris, X. Su, B. S. Gill, R. Hhaselkorn and P. Gonicki. 2002.** Phylogenetic analysis of the acetyl-coA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase loci in wheat and other grasses. *Plant. Mol. Bio* 48: 805-820.
- Jakob, S. S., A. Ihlow and F. R. Blattner. 2006.** A chloroplast genealogy of *Hordeum* (*Poaceae*): long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference. *Mol. Biol. Evol.* 23: 1602-2612.
- Komatsuda, T., K. I. Tann, B. Salomon, T. Bryngelsson and R.V.Bothmer. 1999.** Phylogeny in the genus *Hordeum* based on nucleotide sequences closely linked to the *vrs1* locus (row number of spikelets). *Genome*, 42: 973-981.
- Liu, Q. L., S. Ge, H. B. Tang, X. L. Zhang, G. F. Zhu and B. R. Lu. 2006.** Phylogenetic relationships in *Elymus* (*Poaceae: Triticeae*) based on then nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences. *New Phytol.* 170: 411-420.
- Mason-Gamer, R. J. 2008.** Allohexaploidy introgression and the complex phylogenetic history of *Elymus repens* (*Poaceae*). *Mol Phylogenet. Evol.* 47: 598-611.
- Murray, M. G. and W. F. Thompson. 1980.** Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Res.* 8(19): 4321-4326.
- Naghavi, M. R., M. A. Malboobi and S. Rashidi. 2009.** Bioinformatics. University of Tehran Press. (In Persian).
- Nishikata, T. B. Salomon, T. Komatsuda, R. V. Bothmer and K. Kadowaki. 2002.** Molecular phylolgeny of genus *Hordeum* using three chloroplast DNA sequences. *Genom*, 45: 1157-1166.
- Orgaard, M. and K. Anamthawat-jonsson. 2001.** Genome discrimination by insitu hybridizationin Icelandic

- species of *Elymus* and *Elytrigia* (*Poaceae: Triticeae*). *Genome*, 44 :275–283.
- Orgaard, M. 1994.** Intergeneric hybridization between species of *Leymus*, *Psathrostachys* and *Hordeum* (*Poaceae, Triticeae*). *Annal. Bot.* 73: 471-479.
- Petersen, G. and O. Seberg. 2003.** Phylogenetic analysis of the diploid species of *Hordeum* (*Poaceae*) and a revised classification of the genus. *Syst. Bot.* 28: 293–306.
- Safari, M. 2003.** Principle of Agricultural Biochemistry. University of Tehran Press. (In Persian).
- Small, R. J. A. Ryburn, R. C. Cronn, T. Seelanan and J. F. Wendel. 1998.** The tortoise and the hare: choosing between noncoding plastome and nuclear sequences for phylogeny reconstruction in a recently diverged plant group. *Am. J. Bot.* 85: 1301–1315.
- Sun, G., M. Pourkheirandish and T. Komatsuda. 2009.** Molecular evolution and phylogeny of the *RPB2* gene in the genus *Hordeum*. *Annal Bot.* 103: 975–983.
- Von Bothmer, R. C. Banden, R. B. Jorgense and I. B. Linde Laursen. 1991.** An ecogeographical study of the genus *Hordeum*. International Board for Plant Genetic. Resources Institute, Rome, Italy.
- Von Bothmer, R., T. L. Van Hintum, H. Knupffer and K. Sato. 2003.** Diversity in Barley (*Hordeum vulgare*). Elsevier Science. B. V., Amesterdam. The Netherlands.
- Xion, J. 2006.** Essential bioinformatics, published in United State of America by Cambridge University Press, Newyork.
- Zhang, CH., X. Fan, H. Q. Yu, H. Q. Zhang, X. L. Wang and Y. H. Zhou. 2009.** Phylogenetic analysis of questionable tetraploid species in *Roegneria* and *Pseudoroegneria* (*Poaceae: Triticeae*) inferred from a gene encoding plastid acetyl-CoA carboxylase. *Biochem. Syst. Ecol.* 1–9.

Assessment of phylogenetic relationships of *ACC* gene in *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera

Behzadi Rad, M.¹, M. R. Nagavi² and A. R. Taleei³

ABSTRACT

Behzadi Rad, M., M. R. Nagavi and A. R. Taleei. 2012. Assessment of phylogenetic relationships of *ACC* gene in *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera. *Iranian Journal of Crop Sciences*. 14(1):84-93. (In Persian).

Plastid single-copy gene acetyl- coAcarboxylase (ACCCase) is the first agent in the biosynthesis of fatty acids which is suitable for the studying of phylogenetic relationships, evolutionary and systematic of grasses. Single and low copy genes are less likely subject to concerted evolution, thus making themselves ideal tools for studying the origin and evolution of polyploid taxa. In this study, phylogenetic relationship of seven species and subspecies of (*Hordeum*) of Iran including (*Hordeum murinum* L.), (*Hordeum marinum* Hudson), (*Hordeum brevisubulatum* Trinus Link), (*Hordeum spontaneum* K. Koch), (*Hordeum bulbosom* L.), (*Hordeum vulgare* convar. *distichon* L.), (*Hordeum vulgare* convar. *hexastichon* L.), were investigated using gene-specific primers acetyl- CoAcarboxylase (*ACCI*) and then compared their sequences with the sequences of species of *Leymus* and *Elymus* genera. A great diversity was observed in the wild barley from Iran. Phylogenetic tree grouped all samples in two main groups. The first group consisted of all accessions of *Leymus* and *Elymus* genera as well as two accessions of *Hordeum*. While the second group consisted of all Iranian species/subspecies of *Hordeum* along with *Hordeum vulgare* L. with unknown origin. Since *ACCI* gene is a valuable source for phylogenetic analysis in the *Triticeae* tribe, this research investigated the genomic and evolutionary relationships of the *Hordeum*, *Leymus* and *Elymus* genera and determined reasonable and important Taxonomy relationships among *Hordeum* species from Iran.

Key words: *ACC* gene, Gene sequence, *Hordeum*, Molecular evolution and Phylogenetic.

Received: September, 2010 Accepted: September, 2011

1-M.Sc. Students, Agricultural and Natural Resources Campus, The University of Tehran, Karaj, Iran (Corresponding author) (Email: mbehzadi@ut.ac.ir)

2- Professor, Agricultural and Natural Resources Campus, The University of Tehran, Karaj, Iran

3- Professor, Agricultural and Natural Resources Campus, The University of Tehran, Karaj, Iran